

A vércsoport antigének genetikai variációi és kimutatásuk, szerepe a transfúziológiai gyakorlatban

Dr. Toldi József

OVSZ Szegedi Regionális Vérellátó Központ

Genetikai sokféleség és az immunrendszer kapcsolata

- *Membránstruktúrát kódoló gének*



- *Véletlenszerű változások a gén szerkezetében*

- *Membránstruktúrát kódoló gének sokfélesége (genetikai polimorfizmus)*



- *Diszkrét egyedi eltérések a membránstruktúra szerkezetében (antigének)*



- *Transzfúzió*

- *Terhesség*

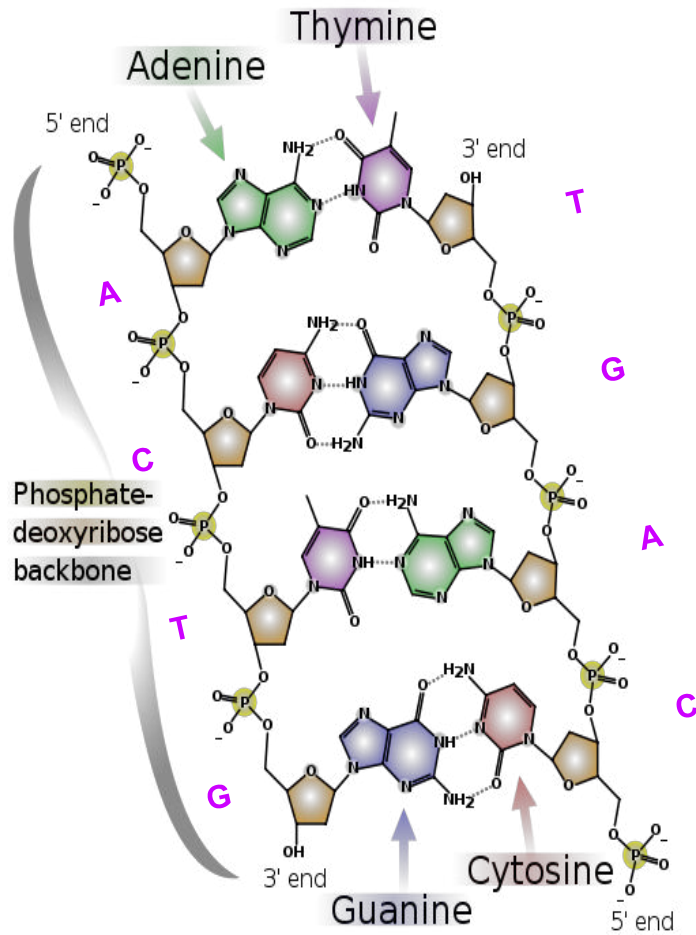
- *A recipiens immunreakciója a számára testidegen antigénekre (struktúrákra)*



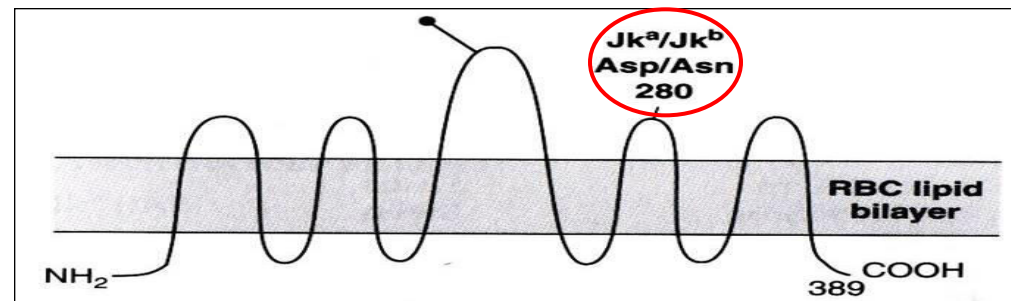
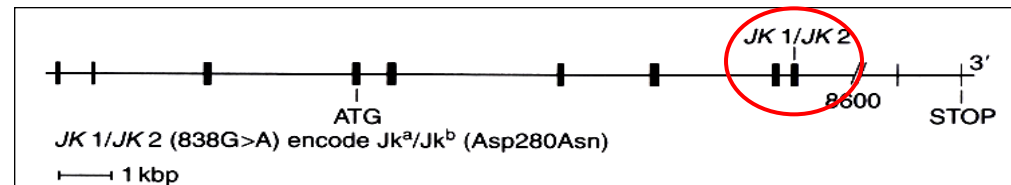
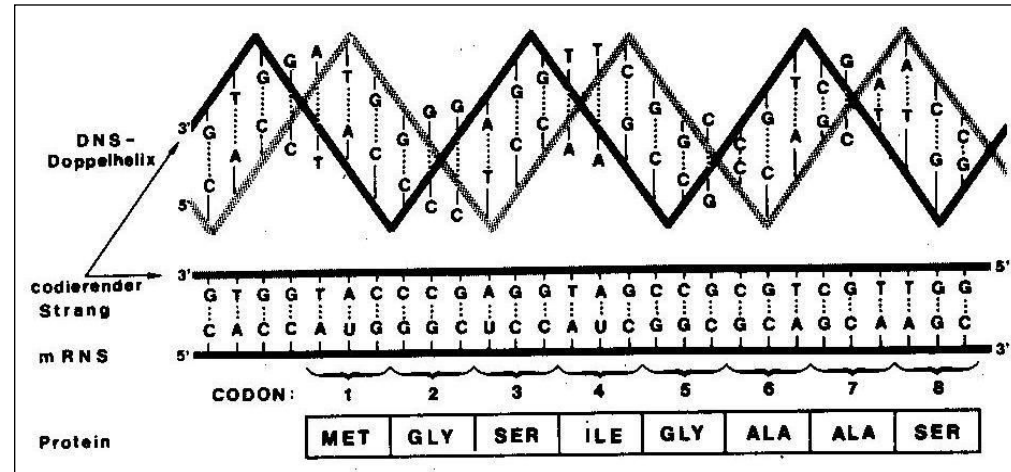
- *Szövődményt kiváltó antitestek megjelenése a keringésben*

A genetikai kód

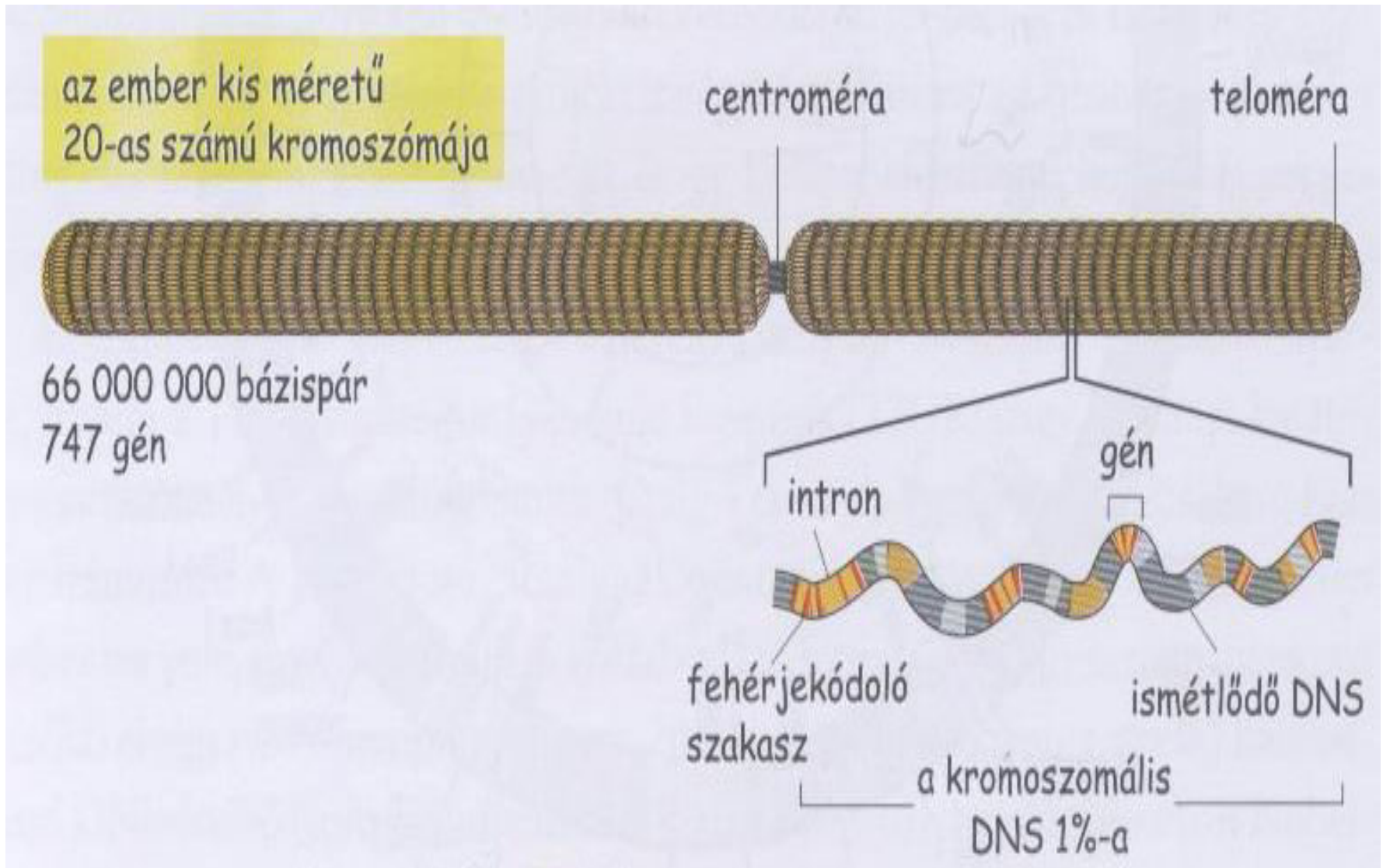
❖ a DNS szerkezete



❖ DNS → mRNS → polipeptid (kódátírás)



Az örökítő anyag (kromoszóma → gén → DNS szakasz)



A polimorfizmus genetikai háttere

***A101
ősgén**

- a véletlenszerű változások lehetséges formái -

**A1
antigén**

pontmutáció

- 'missence' vagy
értelmes mutáció
- 'silencing' vagy néma
mutáció

nukleinsavcsere

A fehérjelánc szerkezetében aminosavcserét okozó változás (új tulajdonság)

a génekszpresszió inaktiválása a promoter régió gátlása útján (változatlan tulajdonság)

- 'splicing' mutáció

a gén intron-exon határát érintő változás (funkció nélküli fehérje)

- 'nonsense' vagy
értelmetlen mutáció

Idő előtti stop vagy értelmetlen kodont eredményező változás (csonka, inaktív fehérje)

rekombinációs események

génátrendeződés (rearrangement = újrarendezés)

- cisz forma

az ugyanazon szülői kromoszómán elhelyezkedő gének részleges kicserélődése (RHD-CE-D)

- allél forma
(crossing over)

allélpozícióban lévő szülői (apai/anyai) kromoszómán elhelyezkedő gének részleges kicserélődése

inszerció

új bázispárok beépülése a DNS láncba

delécio

kromoszómaszakasz/DNS bázispárok kiesése

duplikáció

kromoszómaszegmentum/ DNS bázispárok megkettőződése

inverzió

kromoszóma/DNS lánc törés és a keletkező darab fordított irányban való visszaépülése

Génvariánsok megjelenése

Polimorf jellegek

- A, A1, A2, A3, Ax, Am, Ael...
- B, B2, B3, Bm, Bel...
- O...

Ritka fenotípusok (O_h)

Gyakori génmódosulások hatásai

génmechanizmus	<i>a génmódosulás eredménye</i>	<i>A génmódosulások hatása a génproduktumra</i>	példák
értelmes mutáció	<i>teljes értékű új génvariáns</i>	<i>új antigéntulajdonság megjelenése</i>	Fya → Fyb
	<i>génen belüli kevésbé versenyképes génvariáns</i>	<i>az antigéntulajdonság kifejeződésének megváltozása (alcsoport)</i>	A1 → A2, A3, Ax, Am...
értelmetlen vagy néma mutáció	<i>inaktív v. pszeudogén</i>	<i>nem okoz változást a membránstruktúra szekezetében</i>	H → H (O)
		<i>az antigéntulajdonság hiánya</i>	Ko fenotípus
deléció	<i>a génlokusz hiánya (RhD deléció)</i>		D → d
	<i>kromoszómaszakasz hiánya</i>	<i>gly-A hiánya és fehérjén kifejeződő antigének hiánya</i>	Gly-A hiány (En(a-))
		<i>gly-A hiánya és fehérjén kifejeződő antigének hiánya</i>	Gly-B hiány (U-)
		<i>gly-A/ gly-B hiánya és fehérjéken kifejeződő antigének hiánya</i>	Gly-A/B hiány (Mk)
		<i>X nemi krómoszóma részleges deléciója (Kx-,Km-)</i>	McLeod fenotípus
rekombináció cisz forma	<i>az ugyanazon szülői kromoszómán elhelyezkedő gének részleges kicserélődése</i>	<i>hibridantigén megjelenése</i>	Mc ag 1Ser(M)/5Glu(N) (RHD-CE-D); RHCE-D CE
rekombináció allél forma (crossing over)	<i>két homológ kromoszóma átkereszteződése következtében történő részleges információcsere</i>	<i>új apai/anyai géneket tartalmazó haplotípus</i>	

No.	Vércsoport megnevezés	Vércsoport szimbólum	Gén megnevezés	Kromoszóma lokalizáció	Génmechanizmusok formái	Génvariánsok száma	Antigének száma
001	ABO	ABO	ABO	9q34.2	mut, del, ins, rearrangement	335	4
002	MNS	MNS	GYPA, GYPB, GYPE	4q31.21	mut, gene conversion, unequal hr	48	49
003	P1PK	P1PK	A4GALT	22q13.2	mut, del, ins	52 A4GALT, 13 B3GALNT1	3
004	Rh	RH	RHD, RHCE	1p36.11	mut, del, gene conversion, hr?	127 RHCE, 255 RHD	54
005	Lutheran	LU	LU	19q13.32	mut, del	20	24
006	Kell	KEL	KEL	7q34	mut, del, ins	74	36
007	Lewis	LE	FUT3	19p13.3	mut, ins	53 FUT3, 20 FUT6, 2	6
008	Duffy	FY	DARC	1q23.2	mut, del	11	5
009	Kidd	JK	SLC14A1	18q12.3	mut	34	3
010	Diego	DI	SLC4A1	17q21.31	mut, del, ins	91	22
011	Yt	YT	ACHE	7q22.1	mut, del	4	2
012	Xg	XG	XG, MIC2	Xp22.33	ismeretlen	1 CD99, 1 XG	2
013	Scianna	SC	ERMAP	1p34.2	mut	9	7
014	Dombrock	DO	ART4	12p12.3	mut, del	20	10
015	Colton	CO	AQP1	7p14.3	mut, del, ins	12	4
016	Landsteiner-Wiener	LW	ICAM4	19p13.2	mut, del	3	3
017	Chido/Rogers	CH/RG	C4A, C4B	6p21.3	mut, dup, rearrangement	3 C4A, 4 C4B	9
magyarázat: mut=mutáció, del=delécio, ins=inszercio, dup=duplikáció, rekombináns események: - hr=homológ rekombináció,-rearrangement=újrarendeződés, - gen conversion =génátrendezés							

No.	Vércsoport megnevezés	Vércsoport szimbólum	Gén megnevezés	Kromoszóma lokalizáció	Génmechanizmusok formái	Génvariánsok száma	Antigének száma
018	H	H	FUT1	19q13.33	mut, del, ins, unequal hr	50 FUT1, 63 FUT2	1
019	Kx	XK	XK	Xp21.1	del	35	1
020	Gebrich	GE	GYPC	2q14.3	mut, rearrangement	10	11
021	Cromer	CROM	CD55	1q32.2	mut	15	19
022	Knops	KN	CR1	1q32.2	mut, del, dup	32	9
023	Indian	IN	CD44	11p13	mut	4	5
024	Ok	OK	BSG	19p13.3	mut	5	3
025	Raph	RAPH	CD151	11p15.5	mut	4	1
026	John Milton Hagen	JMH	SEMA7A	15q24.1	mut	12	6
027	I	I	GCNT2	6p24.2	mut, del	13	1
028	Globoside	GLOB	B3GALT3	3q26.1	lásd P1PK vércsoportot		2
029	Gill	GIL	AQP3	9p13.3	mut	8	1
030	Rh-associated glycoprotein	RHAG	RHAG	6p21-qter	mut	23	4
031	Forsman	FORS	GBGT1	9q34.13	mut	2	1
032	Junior	JR	ABCG2	4q22	mut, del, ins	23	1
033	Langereis	LAN	ABCB6	2q36	mut, dup, del, ins	37	1
034	VEL	VEL	SMIM1	1q36.2	del	2	1
035	CD59	CD59	CD59	11p13	nincs adat		1
036	Augustine	AUG	SLC29A1	6p21.1	nincs adat		2

magyarázat: mut=mutáció, del=delécio, ins=inszcrcio, dup=duplikáció, rekombináns események: - hr=homológ rekombináció,- rearrangment=újrarendeződés, - gen conversion =génátrendezés

BGMUT database; Transfus Med Hemother. 2014 Oct; 41(5): 346-351

Santosh Kumar Patnaik,a Wolfgang Helmberg,b and Olga O. Blumenfeldc BGMUT Database of Allelic Variants of Genes Encoding Human Blood Group Antigens. Transfus Med Hemother. 2014 Oct; 41(5): 346-351.

A génmódosulások transzfúziós megítélése

❖ *A véletlenszerű génmódosulások a tulajdonságot meghatározó gének sokféleségében nyilvánulnak meg*

❖ *a génmódosulások hatására a membránszerkezetben bekövetkezett változások lehetséges szerológiai megnyilvánulásai*

- Antigént érintő változás

Teljes értékű új antigén

Megváltozott tulajdonságú meglévő antigén

...

(csak az immunválaszban képződött antitesttel kimutatott polimorf membránstruktúra tekinthető vércsoport antigénnek. /ISBT meghatározás)

- Fenotípus érintő változás

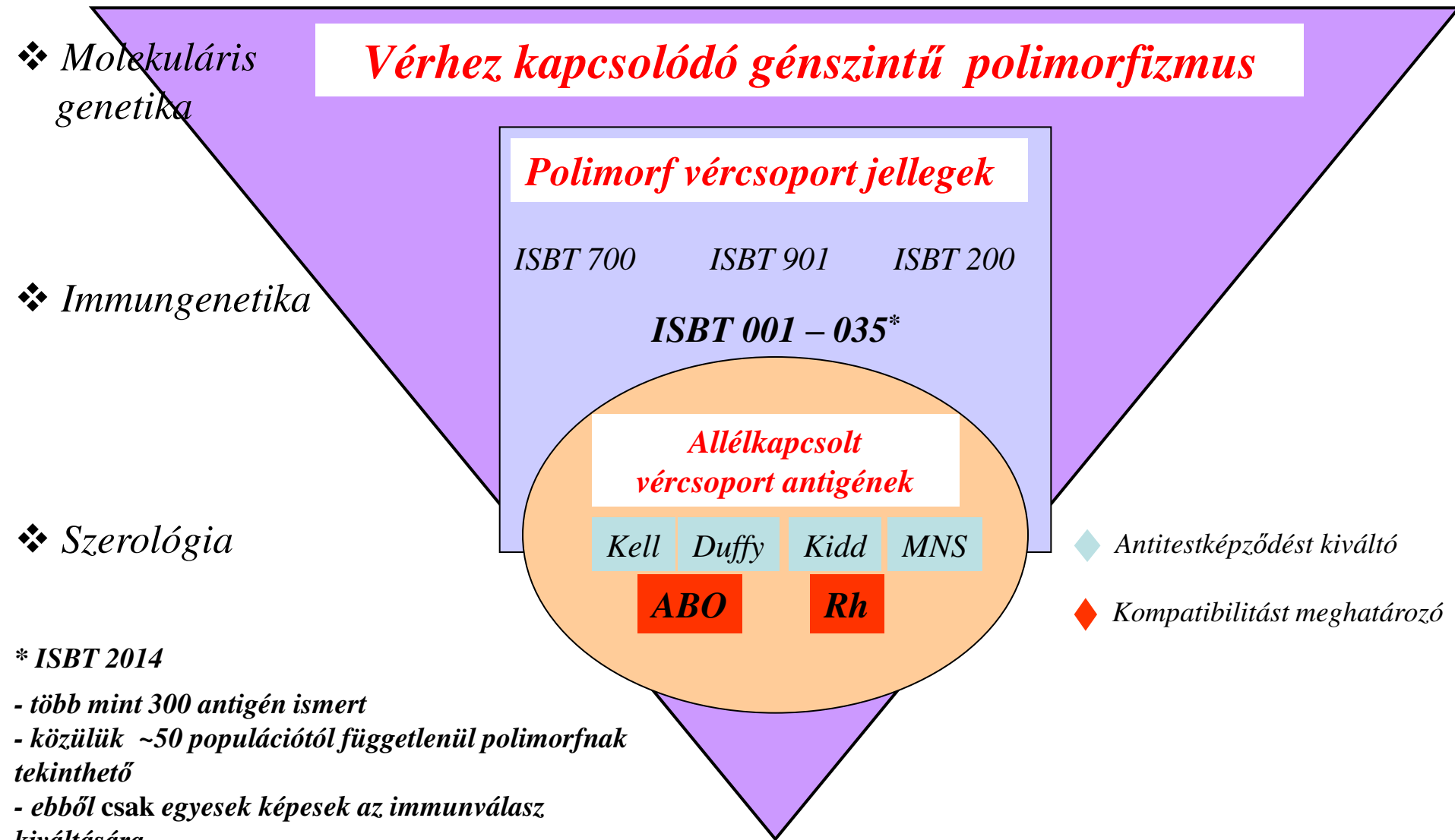
Recesszív génmechanizmusnak köszönhető ritka fenotípusok

Membránhiányos „null” antigén fenotípusok

...

Vércsoport polimorfizmus

- egyediséget kifejező öröklött jellegek a vörsejteken -



* ISBT 2014

- több mint 300 antigén ismert
- közülük ~50 populációtól függetlenül polimorfnak tekinthető
- ebből csak egyesek képesek az immunválasz kiváltására

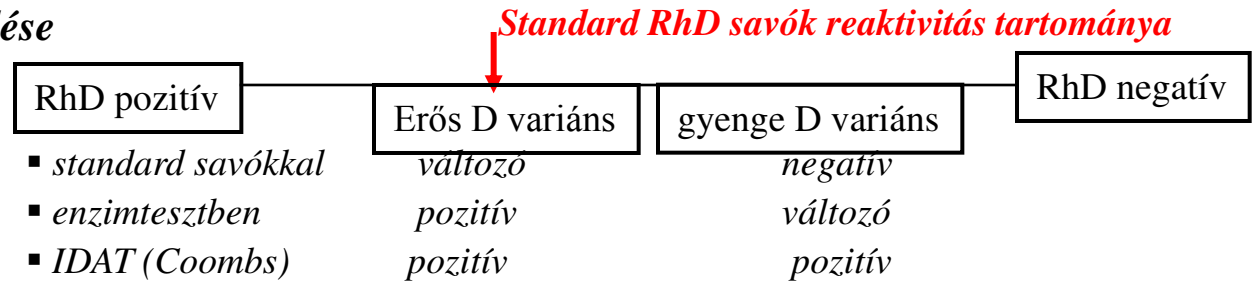
A vércsoport antigének genetikai variációinak kimutatása

❖ az antigén vizsgálatával szerológiai módszerek segítségével

- a célantigént direkt agglutináló reagenssel
- a célantigén fedettségét igazoló reakcióval (IAT)
- adszorpció- elúciós technika segítségével (Ael, Del ...)
- egyéb vizsgálati módszerekkel
 - izoantitestek kimutatásával (ABO)
 - testnedvekben megjelenő vércsoportanyagok kimutatásával (neutralizációs teszt)

- D variánsok szerológiai viselkedése

(Stratton 1946)



- D^{VI} kategória vizsgálata



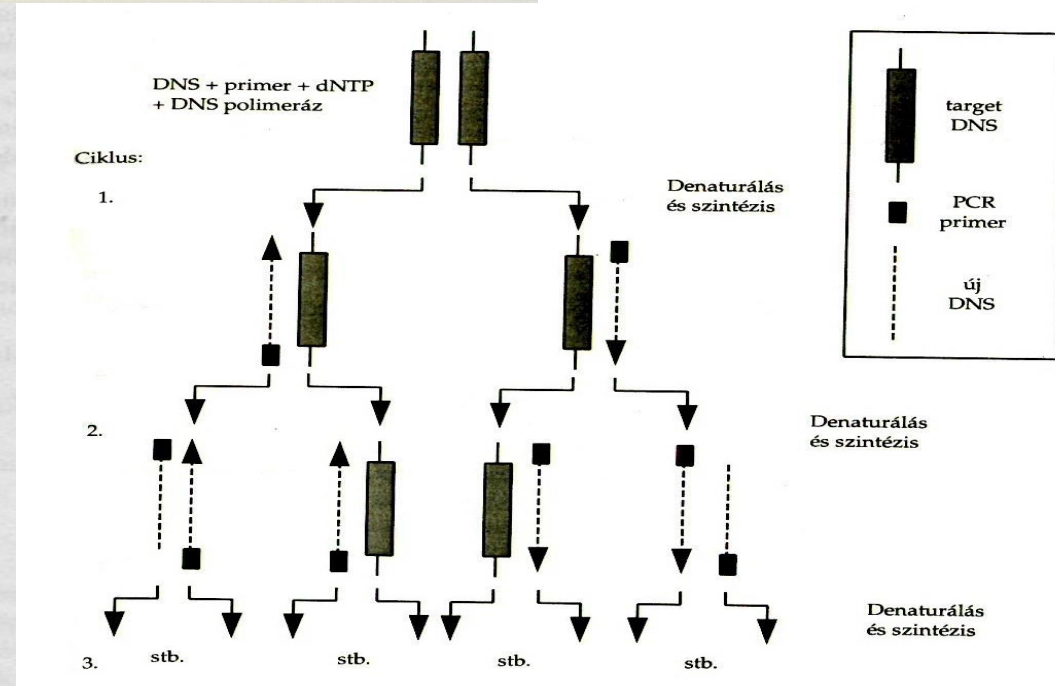
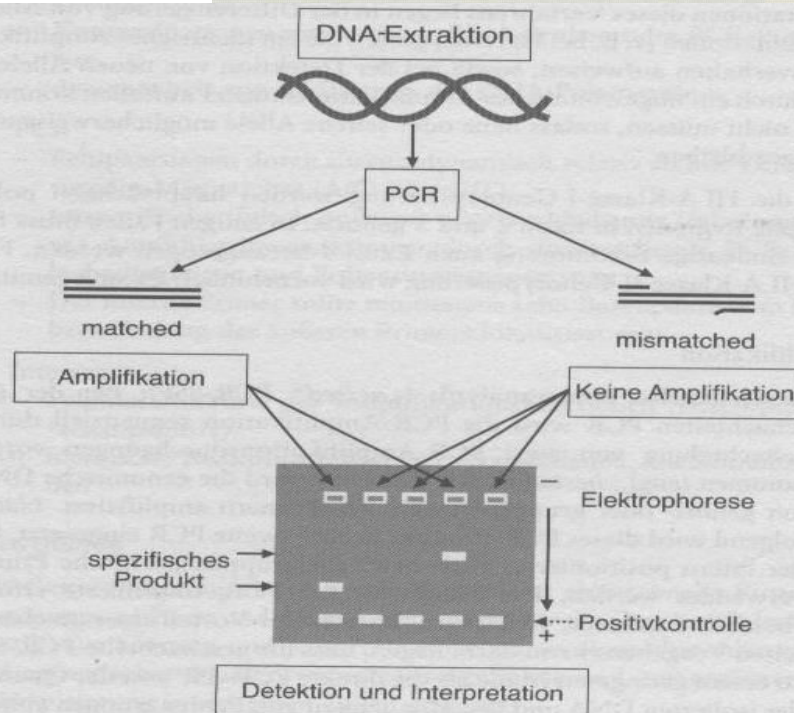
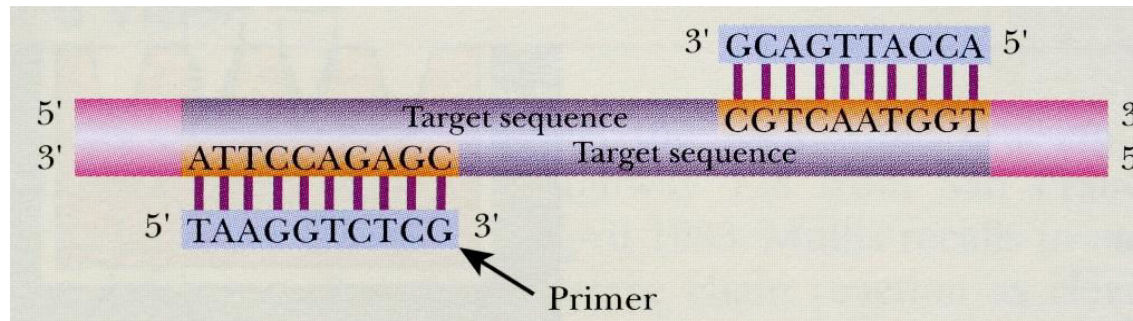
Parciális D kategória (ep1-ep9)

epitop	III	IVa	IVb	Va	Vc	VI	VII
epD1	+	-	-	-	-	-	+
epD2	+	-	-	+	-	-	+
epD3	+	-	-	+	-	+	+
epD4	+	+	-	+	-	+	+
epD5	+	+	+	-	+	-	+
epD6,7	+	+	+	+	+	-	+
epD8	+	+	+	+	+	-	+
epD9	+	-	-	+	-	+	+

A vércsoport antigének genetikai variációinak kimutatása

❖ génszintű vizsgálattal (PCR-SSP)

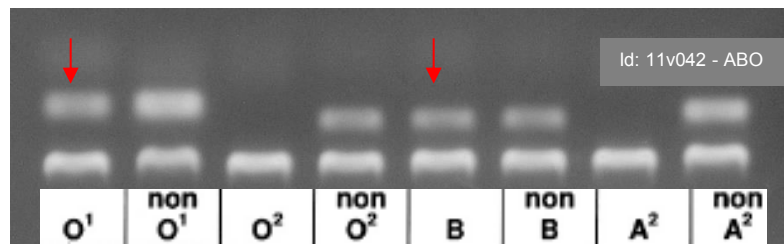
- I. fázis(92-95°C) a DNS szállakat összetartó hidrogénkötések felbomlása
- II. fázis (~65°C) a primer kapcsolódása a komplementer DNS szálhoz
- III. fázis (~72°C) a taq polimeráz aktiválódása és a DNS szál felépülése



ABO tulajdonságra történő vizsgálat - esetismertetés

Utolsó véradása alkalmával nem meghatározható ABO vércsoport eredmény. Előzetesen 3 alkalommal vércsoportja „O” RhD poz.

- V2011_042 gyerek

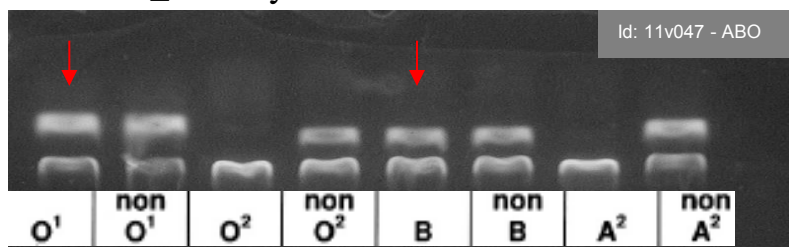


Az eredmény kiértékelése: **O¹: pozitív; B: pozitív**

ABO genotípusa: BO¹ genotípus

A genetikai vizsgálat alapján ABO vércsoportja „B”

- V2011_047 anya

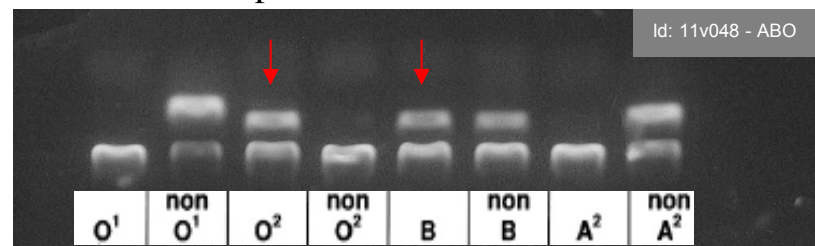


Az eredmény kiértékelése: **O¹: pozitív; B: pozitív**

ABO genotípusa: BO¹ genotípus

A genetikai vizsgálat alapján ABO vércsoportja „B”

- V2011_048 apa



Az eredmény kiértékelése: **O²: pozitív; B: pozitív**

ABO genotípusa: BO² genotípus

A genetikai vizsgálat alapján ABO vércsoportja „B”

ABO tulajdonsága génszintű vizsgálata (PCR-SSP)

• Szerológia vizsgálat eredménye

A beküldő eredményei	vörösvérsejt vizsgálata				a savó vizsgálata			
	anti- A	anti- B	anti- AB	AK	A1	A2	B	O
	n	n	n	n	n	n	4+	n

RBC-Ready Gene ABO-Subtype

IVD

CE

LOT

S9ST091

Protocol for Documentation

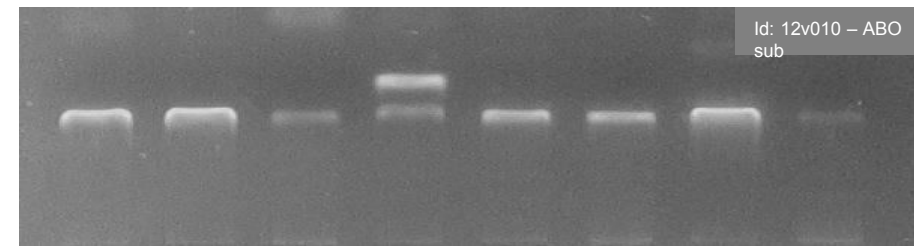
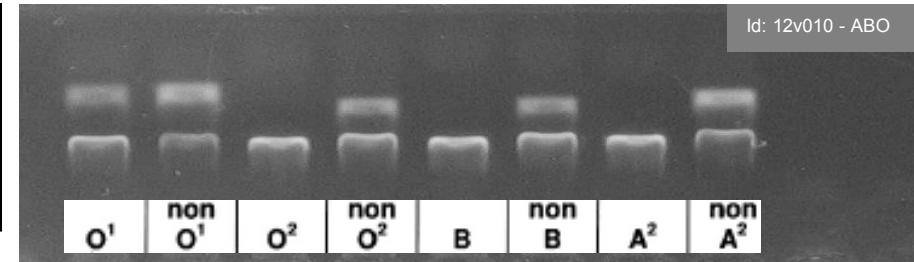


2013-05

Date:

Reaction No.	1	2	3	4	5	6	7	8
PCR-Product (Size in bp)	144 220 375	226 312*	151 264	223 315	122 176	134	157 #	135 178 223
Specificity	Aw04 Aw11 Bw03 Ael02 Ax01 Ax04 B302 Bw19 O45 Aw08 O50	Aw07 Aw06 Bel03 O55	Bw20 A302	O14 Ael01 Oo8	O15 A301 Bx01	cis-AB01 B(A)01 B(A)03 Bel04	Aw13	Aw05 A205 Ax10 O23 A202 A203 B301
Aw04 / Aw11 / Bw03	144	-	-	-	-	-	-	-
Ael02 / Ax01 / Ax04	220	-	-	-	-	-	-	-
B302 / Bw19 / O45	-	-	-	-	-	-	-	-
Aw08 / O50	375	-	-	-	-	-	-	-
Aw07	-	226	-	-	-	-	-	-
Aw06 / Bel03 / O55	-	312*	-	-	-	-	-	-
Bw20	-	-	151	-	-	-	-	-
A302	-	-	264	-	-	-	-	-
O14	-	-	-	223	-	-	-	-
Ael01 / Oo8	-	-	-	315	-	-	-	-
O15	-	-	-	-	122	-	-	-
A301 / Bx01	-	-	-	-	176	-	-	-
cis-AB01 / B(A)01 B(A)03 / Bel04	-	-	-	-	-	+	-	-
Aw13	-	-	-	-	-	-	+	-
Aw05	-	-	-	-	-	-	-	135
A205 / Ax10	-	-	-	-	-	-	-	178
A203 / A202 / O23 / B301	-	-	-	-	-	-	-	223

1. Ael vércsoport (AO¹ genotípus)



1. Az eredmény kiértékelése:

•ABO-SSP: O¹: pozitív; non O¹: pozitív; non O²: pozitív; non B pozitív; non A²: pozitív (A O¹ genotípus)

•ABO subtype: Ael01: pozitív

1. Az eredmény leírása:

A genetikai vizsgálat alapján a nevezett személy ABO genotípusa: AO¹;

Vércsoportja: gyenge „A” (Ael01 pozitív)

1. Transzfúziós szempontból, mint donor és potenciális recipiens gyenge A vércsoportnak (Ael) tekinthető.

TABLE 4. PCR screening of 97 blood donors and 12 patients

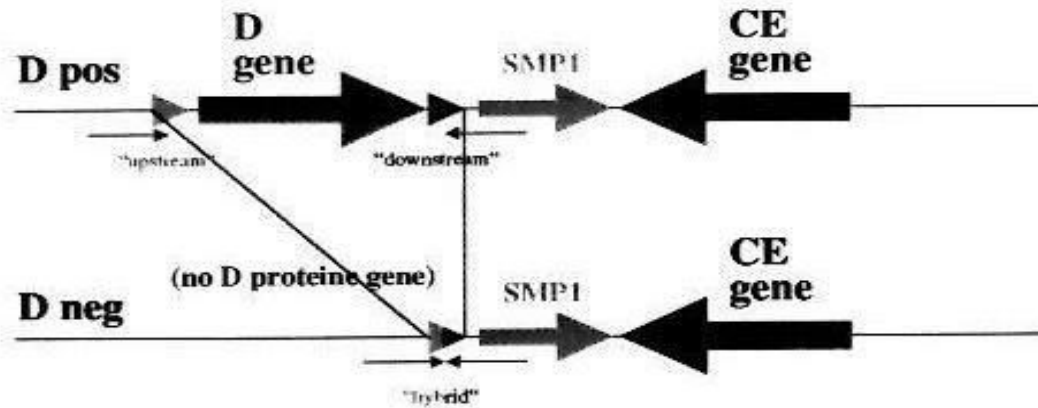
PCR pattern	Phenotype	Genotype (ABO*)
Conclusive: common allele combinations consistent with the ABO phenotypes (n = 90)	A ₁	A101/A101
		A101/O01
		A101/O02
		A101/A102
	A ₂	A201/O01
		A201/A201
	A _{el}	Ael01/O01
	A _x	Ax01/O01
		Ax03/O02
	B	B101/B101
		B101/O01
		B101/O02
	O	O01/O01
		O01/O02
		O01/O03
		O02/O03
Conclusive: common allele combinations inconsistent with the ABO phenotypes (n = 10)	A ₁ B	A101/B101
	A ₂ B	A201/B101
	O	A101/O02
	A _{el}	Aelvar/O01
	B _{weak} †	B101/O01
		B101/O02
		O01/O01‡
		Ax03/B101
	A _{weak} B†	A101/B101
	A ₁ B _{weak} †	A101/O02‡
	A _{weak} B _{weak} †§	A101/B101
Conclusive: unusual allele combinations (n = 5)	A _{weak} B†	B(A)var/O01
	O	O03/O26
Inconclusive: Incompatible with known allele combinations (n = 4)	A ₂	A201/Ovar1
	A _{weak} B†	B(A)var/O02
	O	O02/Ovar2

Seltsam et al: Systematic analysis of the ABO gene diversity within exon 6 and 7 by PCR screening reveals new ABO alleles. *Transf.* 43:428-439 (2003)

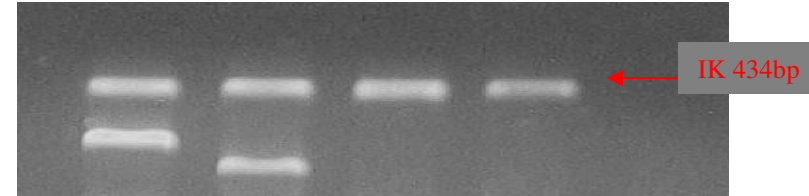
RhD tulajdonság génszintű vizsgálata (PCR-SSP)

RHD gene deletion in the Rhesus box

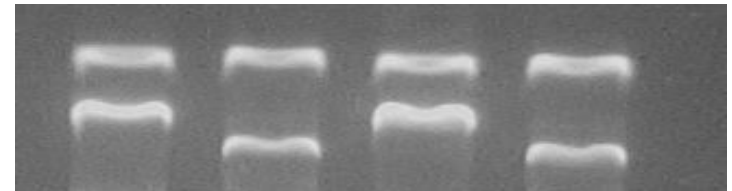
*Wagner et al. Blood 2000



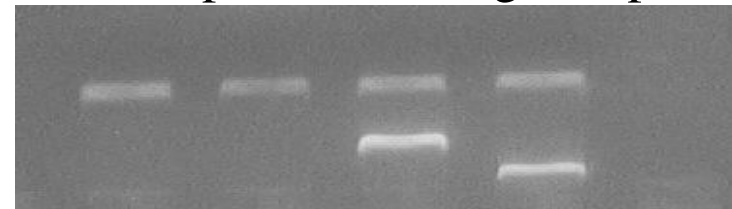
1. RhD negatív – *dd* genotípus
(HYB pozitív)



2. RhD pozitív – *Dd* genotípus



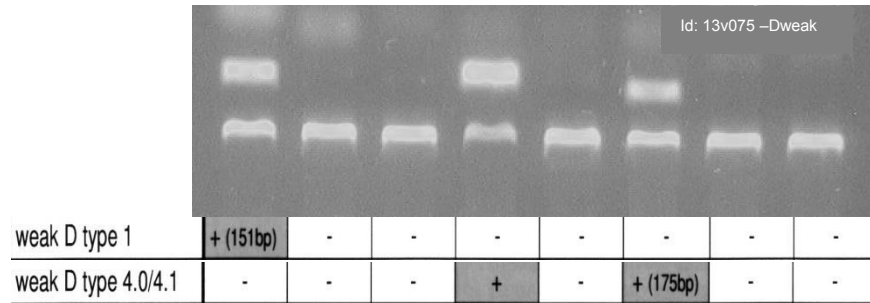
3. RhD pozitív – *DD* genotípus



Reaction No..	1	2	3	4
PCR-Product (Size in bp)	941 bp	1526 bp	937 bp	1527 bp
Specificity	Hybrid-Box	Hybrid-Box	Upstream-Box	Upstream-Box
dd	+	+		
Dd	+	+	+	+
DD			+	+
Result				

wD 1 / wD 4 kombináció

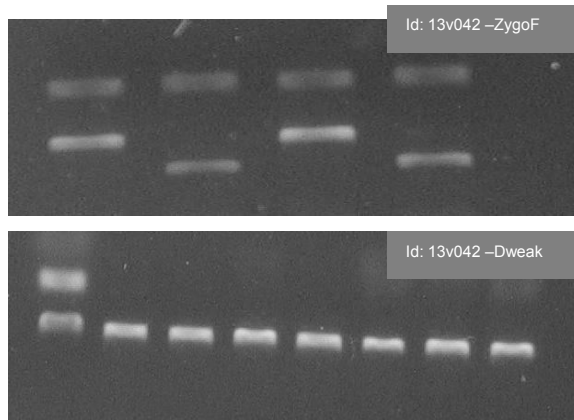
- V2013_0475 gyerek



❖ PCR-Dweak eredmény

- *RHD* gén: **D weak type 1, D weak type 4.0/4.1**

- V2013_042 anya



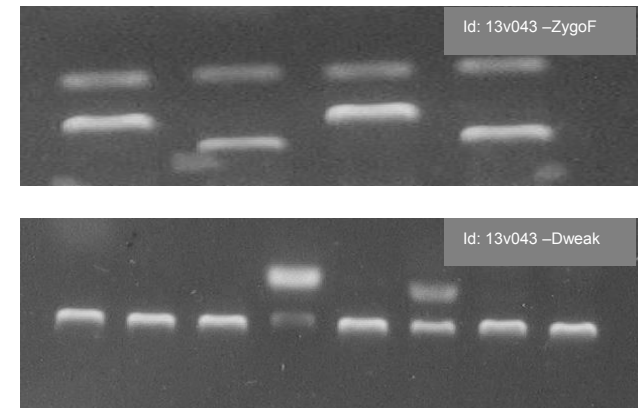
❖ PCR- ZygoFast eredmény

- **HYB box pozitív (d)**
- **RHD pozitív (D)**

❖ PCR-Dweak eredmény

- *RHD* gén: **D weak type 1**

- V2013_043 apa



❖ PCR- ZygoFast eredmény

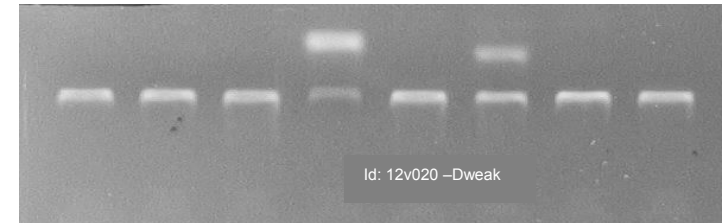
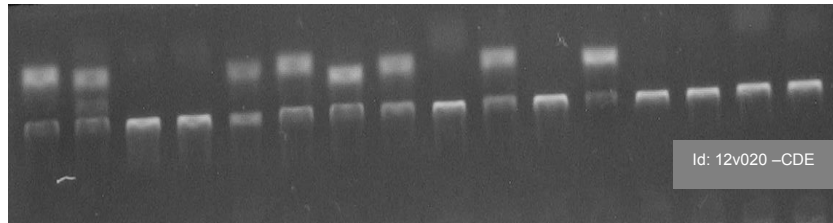
- **HYB box pozitív (d)**
- **RHD pozitív (D)**

❖ PCR-Dweak eredmény

- *RHD* gén: **D weak type 4.0/4.1**

wD 4 és pD VI kombináció

- V2012_020



Reaction No.	1	2	3	4 ^A	5	6	7	8	9	10	11	12	13 ^F	14 ^F	15 ^F	16 ^F
PCR-Product (Size in bp)	124	149 305	139	152 303	130	122	186	147	106 298	145	157	155	166 107	166 165	139 135	139 133
Specificity	D ₁	D ₂ C D ₃	D ₄	D ₅ psi	D ₆	D ₇	D ₉	D ₁₀	C „W“	c	E	e	D ^{VII} DHMi	D ^{VII} DAU	DNB 697A	DNB 697C
	D Exon Block								CcEe Block				CATPA Block			
D cat VI typ 1 ^A	+	149 305	•	•	+	+	+	+	106	-	-	-	106 298	-	-	-
									298	+	-	-	-	+	-	-
									-	+	-	-	-	-	-	-
									-	-	+	-	-	-	-	-
									-	-	-	+	-	-	-	-

weak D type 4.0/4.1	-	-	-	+	-	+(175bp)	-	-
---------------------	---	---	---	---	---	----------	---	---

- PCR-CDE eredmény

i. *RHD* gén: **parciális D – VI typ 1 kategória**

ii. *RHCE* gén: **C negatív, c pozitív, E negatív, e pozitív (ce)**

- PCR-Dweak eredmény

i. *RHD* gén: **weak D type 4.0/4.1**

Vélemény:

Nevezett személy RHD vizsgálata egy parciális 1. típusú DVI gén és egy gyenge D tulajdonságú gén (weak D type 4.0/4.1) kombinációját igazolta.

❖ ABO alcsoportok transzfúziós jelentősége

- „A” alcsoportok - a vörösvérsejt anti-A antitest abszorpciójára képes
- a savó nem tartalmaz anti-A antitestek

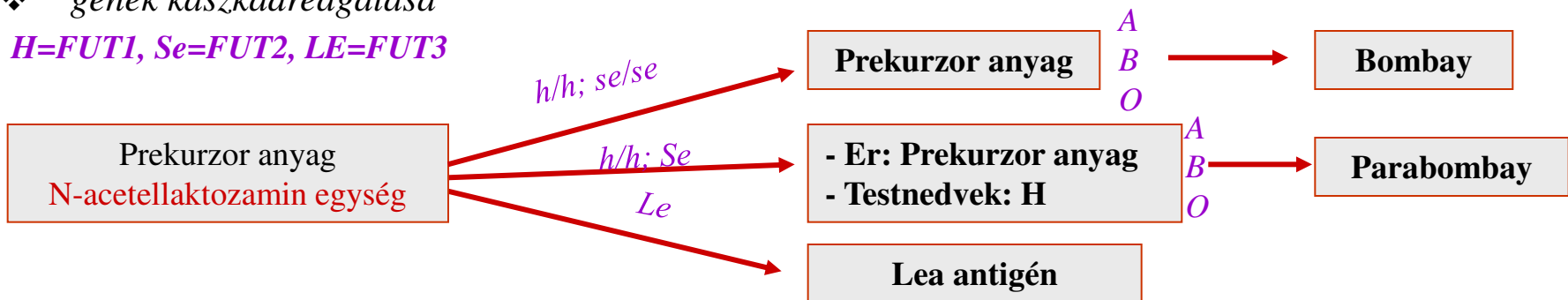
alcsoport	kiemelet tulajdonság	a vörösvérsejt reakciói			vércsoport anyag ¹	antitest a savóban ²	populációs eltérések	transzferáz enzim (aktivitás az A1-hez viszonyítva))	"A" antigén sűrűség a vörösvérsejten	transzferázt kódoló gén	megjegyzés
		anti-A	anti-A1	anti-H							
A1	referencia	++++	++++	-	A és H			A1	1 - 1.500.000	A101	
A2	az A1-től némileg gyengébb egyértelmű pozitív reakció	++/+	-	++++	A és H	anti-A1*	lappok: 34-50%	A2 (gyengébb aktivitás)	160.000-440.000	A201	* anti-A1 gyakoriság: 1-2% (A2), ~25% A2B vércsoport esetén
Aint	pozitív reakció mind az anti-A1, mind az anti-H-val	++++	++	++++			fekeete bőrrű populáció: 30%, egyéb populáció: 3%				
A3	kevert mező/véres háttér reakció az anti-A és anti-A1-vel	++ (kevert mező)	++++	++ (kevert mező)		anti-A1	-	a) ~ 50% (A1); b) 1-16% (A1 és mód A2); c) ?(mód A2)	40 - 120.000	heterogén genetikai háttér	vörösvérsejtek kis hányada nagy, többsége alacsony sűrűségű "A" antigént tartalmaz
A x	csak egyes anti-A váltanak ki gyenge agglutinációt	+/-	-	+;++			-	? (A1 és A2-től eltérő transzferáz aktivitás)	agglutinált: 10-22000 / szabad: 7-9000	Ax01/Ax03	az anti-AB reagenssel kifejezett reakció
A m	anti-A csak kivételesen okoz agglutinációt	-/(+)	-	++++			-	A _m ^{A1} , A _m ^{A2}	100 -1900		a vörösvérsejtek kevesebb mint 5%-a hordoz A antigént
A end		gyenge - abnormális A3-ra jellemző reakciók				anti-A1	-	nincs mérhető A-transzferáz aktivitás	2100 - 2700		vörösvérsejtek kis hányada nagy, többsége alacsony sűrűségű "A" antigént tartalmaz
A finn		Aend - hez hasonló viselkedés									
A bantu		az A3-hoz hasonló reakciók					bantu populációban: 4%	nincs mérhető A-transzf. aktivitás			
A el	csak anti-A adszorbcíóra képes					anti-A1			100 - 1400	Ael01	a vörösvérsejtek kevesebb mint 5%-a hordoz A antigént
A y	csak gyenge anti-A adszorbcíóra képes								100 - 1900		
A lae	lectín abszorbcíó / anti-A elució										Cad vércsoport gyenge formája

magyarázat: 1= szekretor gén esetén. 2= az anti-B mellett megjelenő antitest;

Toldi J. A vércsoport antigének genetikai variációi és kimutatásuk, szerepe a transzfúziológiai gyakorlatban

❖ ABO ritka fenotípusok transzfúziós jelentősége

❖ gének kaszkádreagálása
H=FUT1, Se=FUT2, LE=FUT3



-Bombay (Oh)

H/h, Se/se, Le/le és ABO gének kombinációi	a testnedvekben megjelenő vércsoport anyagok	vörösvérsejt fenotípus
<u>h/h, se/se</u> , A/B, Le	Le ^a	Bombay vércsoport, Le(a+b-)
<u>h/h, Se</u> , A/B, Le	Le ^a , A/B	Parabombay vércsoport, Le(a+b-)

-Parabombay (Ah/Bh)

vércsoport	vörösvérsejt reakciói				plazma és testnedvek reakció			savó reakciói		
	anti-A	anti-B	anti-H	abszorpció-elució (1)	anti-A	anti-B	anti-H	A1	B	O(H)
Bombay	-	-	-	anti-A↓, -B↓, -H↓	-	-	-	++++	++++	++++
Parabombay	+-	+-	-(2)	anti-A↓, -B↓, -H↓	++++	++++	++++	-	-	+-
1="kriptogén eredetű vércsoportanyag" 2=plazma eredetű										

- Gyakoriság:

- általánosságban a humán populációban: 1:4 millió (0,0004%)
- az Európai lakosságban: 1:1milló (0,0001%); 1:312000 (Wagner, F.F.& Flegel, W.A. Transfusion 37,284-290(1997))
- indiai lakosság: Mumbai – Bombay régió: 1/10000 (0,01%); Marathi populáció (Bombay) 1:7600 (Bathia,H.M .& Sathe, M.S Vox Sag. 18,524-532(1974))

Toldi J. A vércsoport antigének genetikai variációi és kimutatásuk, szerepe a transzfúziológiai gyakorlatban

H antigén hiányt eredményező génmutációk

Table 2.22 Mutations in *FUT1* associated with red cell H-deficient phenotypes.

Symbol	Mutation	Amino acid change	H-transferase expression	Secretor phenotype*	Population	References
<i>h</i> ^{35/980}	C35T A980C	Ala12Val Asn327Thr	NT	Secretor	Taiwanese	[462]
<i>h</i> ³⁴⁹	C349T	His117Tyr	Low	Non-sec	Réunion	[106]
<i>h</i> ⁴⁴²	G442T	Asp148Tyr	Low	Non-sec†	Japanese	[442]
<i>h</i> ⁴⁶⁰	T460C	Tyr154His	NT	Secretor	Taiwanese	[462]
<i>h</i> ^{460, 1042}	T460C G1042A	Tyr154His Glu348Lys	Low/none	Secretor	Japanese	[442,466]
<i>h</i> ⁴⁶¹	A461G‡	Tyr154Cys	NT	NR	European	[472]
<i>h</i> ⁴⁹¹	T491A	Leu164His	None	Secretor	White US	[22,473]
<i>h</i> ⁵¹³	G513C	Trp171Cys	NT	NR	European	[472]
<i>h</i> ⁵²²	C522A	Phe174Leu	NT	Secretor	Chinese	[469]
<i>h</i> ^{del 547/548}	del AG547–552	codon 183/184	NT	Secretor	Taiwanese, Chinese	[462,469]
<i>h</i> ⁶⁵⁸	C658T	Arg220Cys	NT	Secretor	Taiwanese	[462,468]
<i>h</i> ⁶⁵⁹	G659A	Arg220His	NT	Secretor	Taiwanese	[468]
<i>h</i> ⁶⁹⁵	G695A	Trp232stop	None	Non-sec†	Japanese	[442]
<i>h</i> ⁷²¹	T721C	Tyr241His	Low	Secretor	Japanese	[442]
<i>h</i> ⁷²⁵	T725G	Leu242Arg	None	Non-sec	Indian	[105,106]
<i>h</i> ⁷⁷⁶	T776A	Val259Glu	NT	NR	European	[472]
<i>h</i> ^{785, 786}	G785A C786A	Ser262Lys	None	Non-sec	European	[434]
<i>h</i> ⁸⁰¹	G801C or T	Trp267Cys	NT	NR	NR	[474]
<i>h</i> ⁸²⁶	C826T	Gln276stop	None	Secretor	White US	[22,473]
<i>h</i> ⁸³²	G832A	Asp278Asn	NT	NR	NR	[474]
<i>h</i> ^{del 880/881}	del TT880–882	codon 294	NT	Secretor	Taiwanese, Chinese	[462,469,474]
<i>h</i> ⁹⁴⁴	C944T	Ala315Val	NT	NR	European	[472]
<i>h</i> ⁹⁴⁸	C948G	Tyr316stop	None	Non-sec	White US	[473]
<i>h</i> ^{del 969/970}	del CT969,970	codon 323/324	NT	NR	European	[472]
<i>h</i> ^{del 990}	del G990	codon 330	Low	Secretor	Japanese	[442,474]
<i>h</i> ¹⁰⁴⁷	G1047C	Trp349Cys	NT	NR	European	[472]
	None detected		NT	NR	European	[472]

*Secretor phenotypes of individuals with *FUT1* mutation shown.

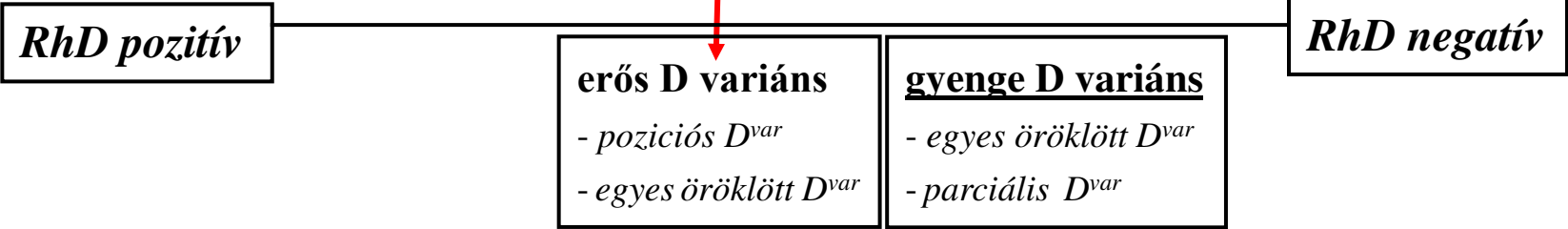
†Homozygous for the weak secretor gene *Se*^{weak} [442] and would be expected to be weak secretors (Section 2.3.1.2).

‡Silent mutations, A474G and T954A, also present.

NT, not tested; NR, not reported; del, deletion.

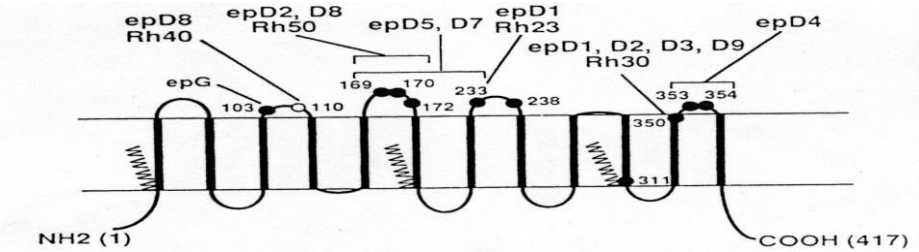
forrás: G. Daiels Human Blood Groups, second edition, 2002

❖ *RhD^{var} tulajdonság*



❖ *Genetikai háttér*

- 1. *Pozíciós D variáns*
- 2. *Öröklött gyenge D (weak D)*
- 3. *Parciális D*



*RHD/RHCE
interakció*

D-
Cde / cde

D⁺
CDe / cde

D^{var}
CDe / Cde

cDE/cde

D⁺
CDe / cde

3. Parciális D kategória (ep1-ep9)

epitop	III	IVa	IVb	Va	Vc	VI	VII
epD1	+	-	-	-	-	-	+
epD2	+	-	-	+	-	-	+
epD3	+	-	-	+	-	+	+
epD4	+	+	-	+	-	+	+
epD5	+	+	+	-	+	-	+
epD6,7	+	+	+	+	+	-	+
epD8	+	+	+	+	+	-	-
epD9	+	-	-	+	-	+	+

Cepellini R, Dunn LC, Turri M. An interaction between alleles at the Rh locus in man which weakens the reactivity of the Rh₀ (D⁺). Proc Natl Acad Sci USA 1955;41:283-8

- **Gyakoriság** - szerológiai módszerekkel vizsgálva: ~ 0,23%; saját vizsgálatainkban 0,22% (64508 mintán)
- *PCR technikával vizsgálva – lásd táblázat*

D variáns tulajdonság molekuláris módszerekkel vizsgálva

- *esetszám: 186 – ebből 10 DD homozigóta*

- *normál D: 91 (46,4%)*

- *D^{var}: 105 (53,6%)*

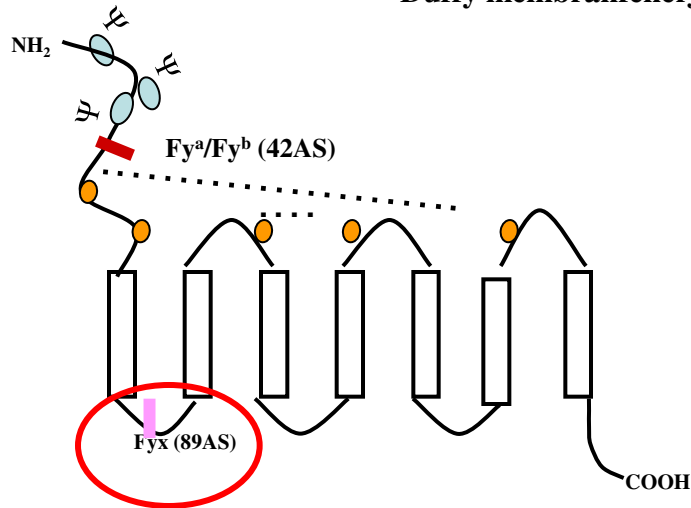
D antigén vizsgálata PCR technikával - eredmények 2011 - 2014. 07. 31N=186 (196)																			
D génformák	személy N=186					D gének N=196					D variáns csoportok						Rh Cc antigén előfordulás		
		N		%			N		% N=196	% N=105		type 1	type 2	type 3	type 4	type 15	CC	Cc	cc
Dweak	DD	6	78	41,935	54,301	DD	10	82	41,84	78,10	N	49	4	24	4	1	11	66	1
	Dd	57				Dd	57				%	59,8	4,9	29,3	4,9	1,2	14,1	84,6	1,3
	nv	15				nv	15												
Dparciális	DD	1	20	10,753		DD	1**	20	10,20	19,05		V	VI	VII	DNB				
	Dd	19				Dd	19				N	2	5	10	3		0	16	4
	nv	0				nv	0				%	10,0	25,0	50,0	15,0		0,0	80,0	20,0
RHD-CE rekombináció	DD	0	3	1,61		DD	0	3	1,53	2,86		RHD-CE(3-7)-D		D(K409)					
	Dd	3				Dd	3				N	2		1			1	2	0
	nv	0				nv	0				%	66,7		33,3			33,3	66,7	0,0
nD	DD	3	85	45,70	DD	9	91	46,43	DD homozigóta minták: DD(3), DwD1(3), wD1wD3(1), wD1/wD4(1), wD4wD4(1), wD4/pD7(1)**						64	20	1		
	Dd	62			Dd	62									75,3	23,5	1,2		
	nv	20			nv	20			C/c antigének megoszlása az RhD pozitív populációban						17,5	51	16,7		

Toldi J.: A szerológiai meghatározásban D variánsnak mutakozó minták génszintű vizsgálata a hazai populációban - Hemat Transzf 2015;48: 108-113

Toldi J. A vércsoport antigének genetikai variációi és kimutatásuk, szerepe a transfúziológiai gyakorlatban

Duffy Fyb→Fx antigén (pontmutáció a 2. exonban)

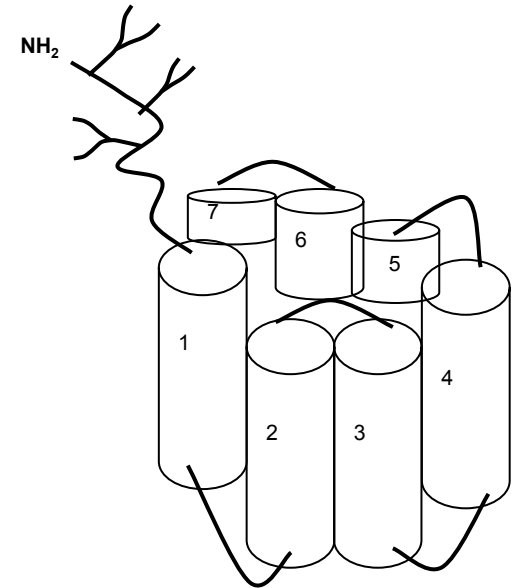
Duffy membránfehérje sematikus és térbeli ábrázolása



Extracelluláris szakasz
(61AS)

Transzmembrán szakasz

Citoplazma szakasz



antigéndetermináns csoport Ψ N-glikokozid kötés ● cystein maradvány ... diszulfid híd

Duffy (DARC, FY) génlokusz (1q23.2; 1,5kbp; 2 exon) sematikus ábrázolása

Exonok



❖ Pontmutációk

G125A C265T

□ gpFy

Fya=Gly

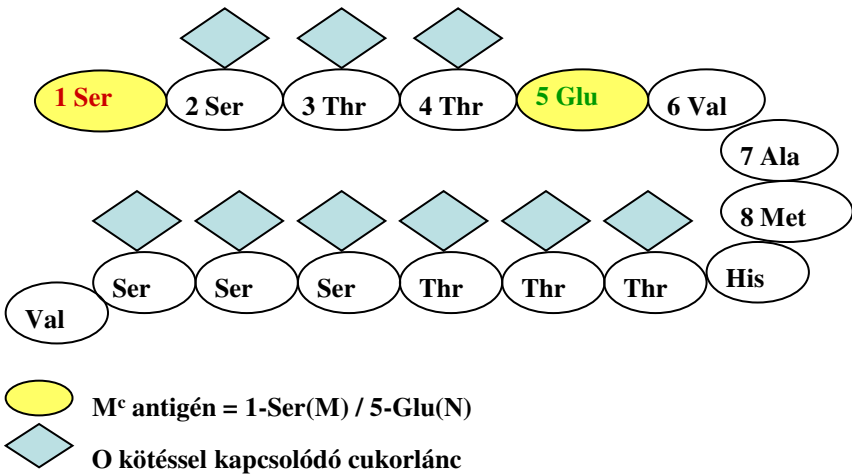
3. típusú IMF.

Fyb=Asp Fx=Arg89Cys

35-43kDa, 3338AS

002 MNS vércsoportrendszer - hibrid antigének (M^c, M^s)

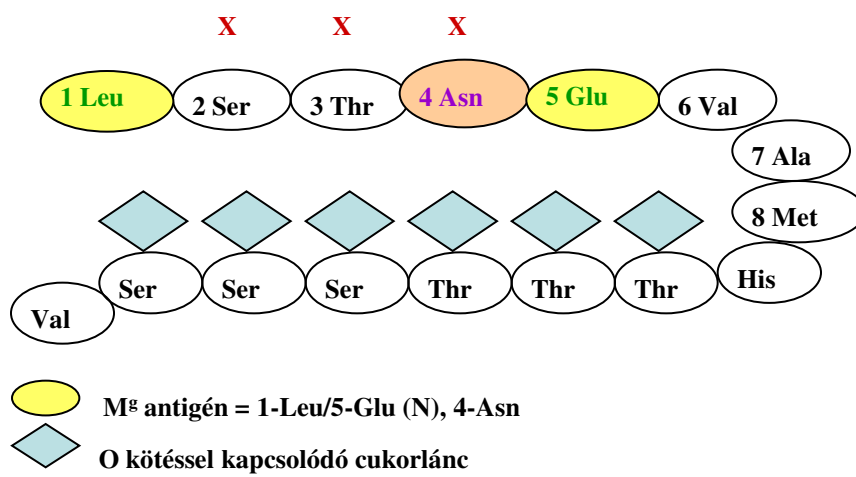
M^c hibrid antigén (MNS8)



M^c jellemzők

- *hibrid antigén – átmenet az M/N antigén közt*
- *nem ismert anti-M^c antitest*
- *mind az anti-M, mind az anti-N savóval reagál*

M^s hibrid antigén (MNS11)

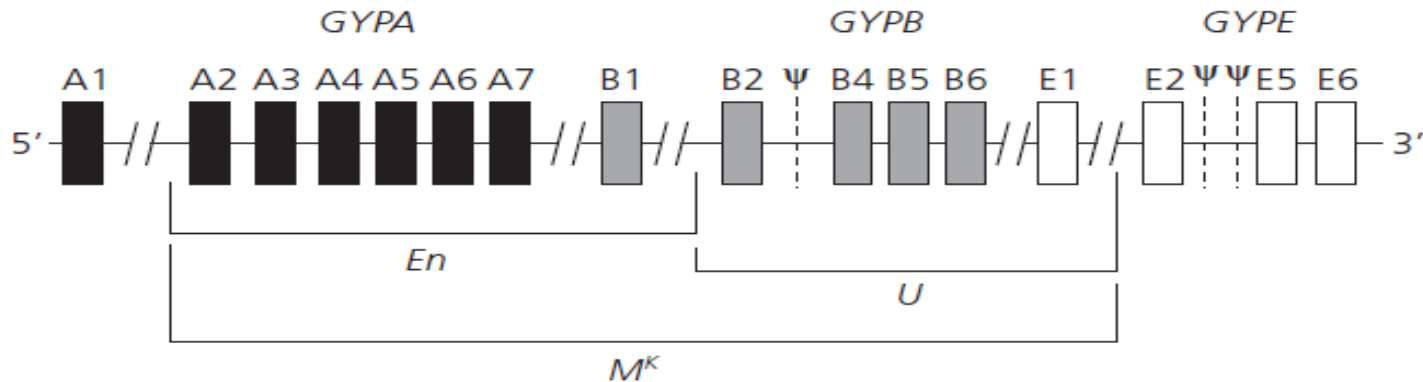


M^s jellemzők

- *A GYPA kifejeződő tulajdonság*
- *nem adszorbál sem anti-M, sem anti-N*
- *a gyakori anti-M^s antitest mutatja ki*
- *az anti-M^s reakció nem szílsav függő*
- *az M^s tripszin szenzitív*
- *S/s antigének kifejeződése normális*

002 MNS vércsoportrendszer hiányos fenotípusai - $En(a-)$, M^k

❖ **En^a** (MNS28) gyakori antigén hiányával meghatározott **$En(a-)$** ritka fenotípus (**En** =envelope)



$En(a-)$

- **$En(a-)Fin$** homozigótaság egy ritka (En) génlokusz deléciójára
- **$En(a-)UK$** heterozigótaság GYP(A-B) hibrid génre
- **$En(a-)$ vörösvérsejt sajátosságai**
 - hiányzó GYPA, nincs M, N antigén kifejeződés
 - normál, esetenként fokozott S, s antigén kifejeződés
 - a normális vörösvérsejthez képest csökkent szíalsav tartalom (~12%)
- **$En(a-)$ gyakoriság:** UK 0/12500; Finn 0/8800, japán 1/250000 /anti- $En(a-)$ antitesttel vizsgálva
- **anti- $En(a-)$ antitest jelentősége**
 - alloantitest: változó akár halálos HTR/ súlyos UHB
 - autoantitest: súlyos esetenként halálos AIHA

M^k ($GYPA$ és $GYPB$ teljes, vagy részleges hiány)

- **homozigóta forma (M^k/M^k)**
- **heterozigóta forma**
- **M^k vörösvérsejt sajátosságai**
 - homozigóta forma: a GYP A/B teljes hiánya nincs M, N, S, s. U antigén kifejeződés
 - heterozigóta forma a GYP A/B 50%-os csökkenése, erősen redukált M,N,S,s,U antigén kifejeződés
- **M^k gyakoriság (inkomplett anti-D vizsgálattal):**
 - svájci véradók közt 8/10097 M^k heterozigótát találtak
 - az első M^k/M^k homozigóta egy japán véradó /Tokunaga (1979)

Öröklött K_o fenotípus

❖ K_o génmechanizmus

- homozigótaság a Ko recesszív génre
- Európai, Afrikai, Észak és Dél Amerikai, Japán, Indiai előfordulás ismert

❖ gyakorisága fehérekben 1:16518/:24953 (0,007%); japánokban 1:14541

❖ K_o vörösvérsejt jellemzői

- Ko fenotípus nem tartalmaz Kell génproduktumot (K -, k -, Kpa -, Kpb -...)
- a vörösvérsejteken a Kx mennyisége csökkent mégis erős aktivitást mutat
- a Ko vörösvérsejtek nem mutatnak morfológiai eltérést, túlélésük normális
- 1990-ig több mint 40 eset ismertet írtak le (W.L. Marsh)
- a Ko fenotípust általában Ku antitest ($Kx+Km$) segítségével sikerül felismerni

❖ transzfúzió, terhesség hatására anti- Ku ($-Km -Kx$) antitestet termel

- klinikailag jelentős, súlyos HTR-t és UHB-t is okozó antitest

McLeod fenotípus

- ❖ *a sejtmembrán nem tartalmaz Kx és Km (KEL20) antigént*
- ❖ *Erősen csökkent Kell antigénkifejeződése a vörösvérsejten (K,k,Kpa, Kpb...) – ezért a McLeod fenotípus kimutatására anti-k reagens használnak*
- ❖ *a McLeod fenotípus hátterében több genetikai mechanizmus szerepel*
 - *az X nemi kromoszóma részeleges deléciója*
 - *XK génlokuszban bekövetkezett génhiba (defektus)*
 - *pontmutáció az XK génben (több formája is ismert)*
- ❖ *a McLeod vörösvérsejt abnormalitásai* - *acantocytosis*
(eltérően az egyéb ritka Kell variánsoktól) - *lerövidült túlélés – kompenzált hemolysis*
- *hiperaktív erythrocytopoesis*
- ❖ *gyakoriságra nézve nincsenek pontos adatok*
 - *1990-ig 60 esetet írtak le kizárólag európai fehér és japán férfiakban*
- ❖ *a McLeod fenotípusú beteg transzfúzió hatására anti-Kx antitestet termel*
- ❖ *A McLeod fenotípus esetenként neurológiai tünetekkel társul – **McLeod Szindróma***
 - *neurológiai eltérések , mint kóros relexek, nem kontrollálható izommozgások*
 - *izomsorvadás, cardyomyopathia, emelkedett CK*
 - *csak férfiakban írták le*
- ❖ *MLS és CGD betegség (súlyos szeptikus állapothoz vezető kóros fagocita funkció)*
 - *X nemi kromoszóma Xk kokuszt is érintő deléció esetén írtak le*
 - **öröklődés:** - *carier nő– egészséges férfi kapcsolatból: beteg fiú utód (50%) és carier leány (50%)*
- *egészséges nő – beteg férfi kapcsolatból: egészséges fiú (100%), carier leány (100%)*

A vércsoport antigének genetikai variációnak transzfúziós jelentősége

- ❖ *antigénváltozások esetén (teljes értékű, megváltozott tulajdonságú antigén)*
- ❖ *a ritka fenotípusok esetén jellemzően gyakran előzetes immunizáció nélkül is megjelenő erősen agglutináló/hemolizáló antitestek képződnek*
 - *Bombay fenotípus* → *anti-H antitest*
 - *En(a-) fenotípus* → *anti-En^a - alloantitest: változó akár halálos HTR/ súlyos UHB*
- *autoantitest: súlyos esetenként halálos AIHA*
 - *p (Tja-) fenotípus* → *anti-PP1Pk (P1Pk)*
 - *Ko fenotípus* → *anti-Ku (-Kx,-Km)*
- ❖ *a ritka fenotípusokhoz társuló (génkörnyezet) betegségek*
 - *habitualis vetélés (p)*
 - *AIHA (szerzett Ko fenotípus)*
 - *McLeod syndroma (McLeod fenotípus)*
 - *Krónikus granulomatosís (McLeod fenotípus)*

Miben segít a vércsoport antigének genetikai variációinak ismerete

- ❖ *a polimorfjellegek és az őket kialakító molekuláris genetikai mechanizmusok pontosabb megismerésében*
- ❖ *a „bázis” antigén tulajdonságainak és reakcióinak jobb megértésében*
- ❖ *a savóban megjelenő antitestek reakcióinak és várható klinikai jelentőségének pontosabb megítélésében*